

**ZUR STANDARDISIERUNG VON
ANTIMIKROBIELLEN TESTMETHODEN
AM BEISPIEL VON
GENTAMYCIN UND NITROFURANTOIN**

Barbara Wiegandt

1975



Digitized by the Internet Archive
in 2026

AUS DER I. MEDIZINISCHEN KLINIK DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Direktor: Prof. Dr. H. Schwiegk

ZUR STANDARDISIERUNG VON ANTIMIKROBIELLEN TESTMETHODEN AM BEISPIEL

VON GENTAMYCIN UND NITROFURANTOIN

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin ver-
fasst und

einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Barbara W i e g a n d t

aus Leonberg/Württ.

München 1974

Berichterstatter: Prof. Dr. W. Lang
Mitberichterstatter: Prof. Dr. H. Schwiegk
Dekan: Prof. Dr. W. Spann
Tag der mündlichen Prüfung: 22.7.1975



Meinen Eltern

INHALTSVERZEICHNIS

I. EINLEITUNG

II. DARSTELLUNG DES PROBLEMS

III. METHODIK UND VERSUCHSBEDINGUNGEN

1. Keimmaterial
2. Bereitung der Agarplatten
3. Inoculum
4. Der Reihenverdünnungstest

IV. GENTAMYCIN

1. Wirkungsspektrum und Toxizität
2. Pharmakologische und bakteriologische Eigenschaften
3. Stabilität von GENTAMYCIN
4. Festlegung der verwendeten Standards
5. Eigene Ergebnisse
 - a. Verhalten bei verschiedenen Medien
 - b. Differenzen in den Hemmzonendurchmessern
6. Diskussion der Ergebnisse
7. Kritik

V. NITROFURANTOIN

1. Klinische und pharmakologische Eigenschaften
2. Bakteriologische Eigenschaften
3. Physikalische Eigenschaften
4. Eigene Ergebnisse
5. Diskussion der Ergebnisse
6. Kritik

VI. ZUSAMMENFASSUNG

VII. ANHANG

1. Zusammensetzung der verwendeten Nährmedien
2. Verdünnungsreihen von Gentamycin
3. Tabellarische Anordnung der Versuchsergebnisse mit Gentamycin
 - a. mit DIFCO-Medium
 - b. mit MUELLER-HINTON-Medium
4. Verdünnungsreihen von Nitrofurantoin
5. Tabellarische Anordnung der Versuchsergebnisse mit Nitrofurantoin mit DIFCO-Medium

VIII. LITERATURVERZEICHNIS

I. EINLEITUNG

Im folgenden soll von eigenen Versuchsergebnissen über das Verhalten der beiden Antibiotika Gentamycin und Nitrofurantoin im Hemmhoftest berichtet werden.

Ziel der Untersuchungen war es herauszufinden, ob zur Erleichterung der Routinearbeit im bakteriologischen Labor einem bestimmten Hemmzonendurchmesser eine minimale Hemmkonzentration (MIC) zugeordnet werden kann. Mit anderen Worten, ob man zu einer verwertbaren Beziehung zwischen den Ergebnissen aus dem Reihenverdünnungstest, der die Bezugsgröße bei der Bestimmung der Sensibilität darstellt, und den Resultaten aus dem Hemmhoftest gelangen kann.

II. DARSTELLUNG DES PROBLEMS

Nur von wenigen Laboratorien wird der exakt quantifizierbare Röhrchentest routinemäßig durchgeführt. Die meisten Laboratorien verwenden noch den Disc-Test in seiner konventionellen Form, wie er bereits in der Anfangszeit der Antibiotikaforschung verwendet wurde. Ein gravierender Nachteil dieser Methode besteht jedoch darin, daß das Antibiotikum am Ort der Wirkung nicht in einer gleichmäßigen Konzentration vorliegt, sondern vom Ort der Applikation zum Ort der Wirkung durch das Nährmedium hindurchdiffundieren muß. Da die Diffusion als physikalische Größe bei verschiedenen chemischen Strukturen sehr unterschiedlich sein kann, geht hieraus hervor, daß beim Vergleich

verschiedener Antibiotika die absolute Hemmgröße primär nur wenig über die antimikrobielle Aktivität eines Stoffes aussagt (1, 2). Daneben spielen für die Hemmhoftgröße noch zahlreiche andere Faktoren wie Agartiefe, Blättchenbeschickung, Aufbringen des Testblättchens und Einsaatdichte eine entscheidende Rolle (3). Da man aber heute in der Klinik noch meist von der Größe der Hemmzone ausgeht und von einem "resistenten", "mäßig empfindlichen" oder "gut empfindlichen" Keim spricht, kann man so zu einer falschen Interpretation der Ergebnisse aus dem Agardiffusionstest, d.h. zu einem falschen Sensibilitätsgrad eines Erregers im bakteriologischen Sinne, gelangen.

Problematisch für die tägliche Routine ist zweifellos auch die von manchen Firmen für ein Antibiotikum herausgegebene unterschiedlich hohe Beschickung der Testblättchen, was ebenfalls dazu führt, daß die Standardisierung des Hemmhoftestes noch mehr erschwert wird.

Die uns zur Verfügung stehende genaueste Methode zur Beurteilung der mikrobiellen Aktivität eines Antibiotikums ist nach wie vor der Reihenverdünnungstest. Da bei dieser Methode eine gleichmäßige Antibiotikakonzentration vorliegt, bietet er dem Agardiffusionstest gegenüber Vorteile. Erstens gibt er eine minimale Hemmkonzentration an. Der Genauigkeit halber darf hierbei aber nicht außer acht gelassen werden, daß mit der üblichen Handhabung des Röhrchentestes, nämlich für die Antibiotikakonzentrationen den Verdünnungsfaktor 2 zu wählen, nur exakt gesagt werden kann, daß die minimale Hemmkonzentration eines getesteten Keimes sicher kleiner ist als die MIC, die angegeben werden kann und nur im günstigsten Fall gleich der bestimm-

ten MIC. Zweitens wird unterschiedlichem Diffusionsverhalten aus dem Wege gegangen, da die Keime von den verschiedenen Antibiotikakonzentrationen gleichmäßig umspült werden. Wegen seiner Aufwendigkeit ist er aber in der täglichen Laborroutine nicht auszuführen und bleibt deswegen meist Testzwecken vorbehalten.

Bei meinen Untersuchungen war die Bezugsgröße bei der Beurteilung der antimikrobiellen Aktivität der Reihenverdünnungstest. Der parallel dazu laufende Hemmhoftest sollte aufzeigen, ob es möglich und erlaubt ist, auf Grund eines Hemmzonendurchmessers auf eine minimale Hemmkonzentration zu schließen.

III. METHODIK UND VERSUCHSBEDINGUNGEN

1. KEIMMATERIAL

Bei den Versuchen wurden *Escherichia coli*-Stämme, die frisch aus dem Urin von Patienten mit Harnwegsinfektionen isoliert waren, verwendet. Die Keime wurden mit den üblichen bakteriologischen Methoden identifiziert.

Mittels einer sterilen Öse wurde von einer Agarplatte eine Kolonie abgenommen, in 15 ml sterile Bouillon übertragen und 18 Stunden bei 37°C bebrütet. Damit wurde eine homogene Trübung erreicht.

2. BEREITUNG DER AGARPLATTEN

Die Agarplatten wurden für jeden Versuch frisch zubereitet. Als Nährmedien wurden DIFCO-Agar und MUELLER-HINTON-Agar (Zusammensetzung beider siehe Anhang) verwendet. Der Agar wurde im Wasserbad er-

hitzt und bis zu einer Agarschicht von circa 4 mm in Petrischalen ausgegossen. Diese 4 mm wurden nach vorausgehenden Variationen der Agartiefe zwischen 2,0 und 5,5 mm als günstig angesehen und, da auch andere Autoren zu diesem Ergebnis kamen (4, 5), gewählt.

Anschließend wurden die Platten bei 4°C bis sie erstarrt waren gelagert und dann 30 Minuten lang im Brutschrank getrocknet.

3. INOCULUM

Eine der schwierigsten Aufgaben war es, eine geeignete Einsaatdichte zu bekommen, da die Bakterienverdünnung zwei Anforderungen genügen sollte:

Erstens sollte im Disc-Test eine Bakterienbesiedelung erreicht werden, bei der mit bloßem Auge die sehr dicht stehenden, jedoch noch nicht konfluierenden Kolonien erkennbar waren.

Zweitens sollte die Einsaatdichte gleichzeitig zur Beimpfung im nebenbei laufenden Röhrchentest verwendet werden können. Diese gewünschte Verdünnung wurde folgendermaßen erreicht:

Aus der oben genannten milchig trüben Bouillonkultur wurde mit einer 1 ml-Pipette 1 Tropfen in 25 ml wiederum steriler Bouillon verdünnt. Aus dieser Verdünnung wurden sofort mit einer Platinöse 3 Tropfen auf die Agarplatten gebracht und gleichmäßig verstrichen. Unmittelbar daran anschließend wurden auf jede Testplatte 3 Testblättchen mit einer sterilen Pinzette aufgelegt. Das Aufdrücken der Blättchen, das noch in einigen Arbeiten empfohlen wird, ist bei den frisch ausgegossenen Agarplatten nicht notwendig, da diese noch so

viel Feuchtigkeit enthalten, daß die Blättchen sich sofort festsaugen und somit keine Diffusionsstörungen der Testsubstanz zu befürchten sind.

Die Agarplatten wurden nun ebenfalls 18 Stunden bei 37°C bebrütet. Mit einem Stechzirkel wurde anschließend der Hemmzonendurchmesser abgegriffen und in Millimeter angegeben.

4. DER REIHENVERDÜNNUNGSTEST

Um einem eventuellen Wirkungsverlust der Antibiotika aus dem Wege zu gehen und um an den genau geforderten Standards festzuhalten, wurden für den Röhrchentest täglich frische Lösungen von 1000 mcg/ml bereitet und anschließend mit Pufferlösung verdünnt. Dies geschah derart, daß 10 abgestufte Konzentrationen (Verdünnungsfaktor 2) resultierten, d.h. die nachfolgenden Röhrchen enthielten jeweils 50 % der Antibiotikakonzentration des vorausgegangenen.

Dabei wurden die 10 Konzentrationsstufen so gewählt, daß die obersten weit über dem therapeutisch erreichbaren Serumspiegel lagen. Es wurden so Keime erfaßt, deren minimale Hemmkonzentration außerhalb von Therapiemöglichkeiten lagen. Es sollte hiermit gezeigt werden, daß es nicht grundsätzlich zulässig ist einem bestimmten Hemmzonendurchmesser mit einer Empfindlichkeit eines Keimes gleichzusetzen, sondern daß die minimale Hemmkonzentration und der erreichbare Serumspiegel damit in Beziehung gesetzt werden müssen.

Beim Test wurden sterile Plastikreagenzgläser verwendet. Beimpft wurden die Röhrchen mit 1 ml derselben Bouillonkultur, die auch bei

den Agarplatten Verwendung fand. Die Ablesung erfolgte mit bloßem Auge unter Ermittlung der minimalen Hemmkonzentration als die Konzentration des ersten unbewachsenen Röhrchens innerhalb der jeweiligen Verdünnungsreihe in mcg/ml.

Alle unklaren Übergänge wurden verworfen, erneut angezüchtet und nochmals getestet.

IV. GENTAMYCIN

1. WIRKUNGSSPEKTRUM UND TOXIZITÄT

Gentamycin ist ein bakterizid wirkendes Oligosaccharid-Antibiotikum mit einem breiten Wirkungsspektrum, welches grampositive und auch gramnegative Erreger einschließt. Klinisch ist vor allem die Wirkung gegen den Problemkeim *Pseudomonas aeruginosa* hervorzuheben.

Da immer wieder die Toxizität besonders auf den Nervus vestibularis betont wird (6) ist eine genaue Dosierung von Gentamycin anzustreben. Bisher fehlen Versuchsergebnisse aus dem bakteriologischen Labor, welche den Kliniker hinweisen oder ihm die Möglichkeit geben einerseits unter der toxischen Dosierung zu bleiben, andererseits den therapeutisch notwendigen Wirkungsgrad *in vivo* zu erreichen. Unter der Gruppe der Aminoglycoside stellt es das am wenigsten toxische dar mit dem größten Wirkungsspektrum (7).

Da Gentamycin vorwiegend durch die Niere eliminiert wird, eignet es sich besonders gut zur Therapie von Harnwegsinfektionen.

2. PHARMAKOLOGISCHE UND BAKTERIOLOGISCHE EIGENSCHAFTEN

Nach Arbeiten verschiedener Autoren (8) wurden die Konzentrationen im Serum quantitativ ermittelt und die Pharmakokinetik untersucht. Die Serumkonzentrationen betrugen nach Applikation von 80 mg Gentamycin 3,7 mcg/ml. Die Halbwertszeit lag bei fast genau 2 Stunden. Werden als minimale Hemmkonzentration im Serum 1,56 mcg/ml zugrunde gelegt (8), so kann gesagt werden, daß nach Injektion von 80 mg

Gentamycin dieser Grenzwert stets überschritten wird und erst nach durchschnittlich 3,5 Stunden niedere Serumspiegel zu erwarten sind. Für die Konzentrationen im Harn werden Spiegel von bis zu 83,1 mcg/ml, die innerhalb 24 Stunden auf 2,6 mcg/ml abfallen, angegeben. Davon finden sich 49,4 % in biologisch aktiver Form im Harn (8). Das bedeutet in den harnableitenden Wegen kann mit einem therapeutischen Wirkspiegel von cirac 40 mcg/ml über mehrere Stunden gerechnet werden.

Es ist anzunehmen, daß in Analogie zu dem später zu besprechenden Nitrofurantoin Keime bei Harnwegsinfektionen noch angegangen werden können, deren Empfindlichkeit bereits außerhalb erreichbarer Serumspiegel liegen (9, 10).

Nach anderen Arbeiten (11) liegen die bakteriziden Konzentrationen nur geringfügig über den entsprechenden bakteriostatischen Werten. Beim Vergleich der 50 % Werte liegen die bakteriziden Werte nur etwa 1 - 3 mal höher als die bakteriostatischen Hemmkonzentrationen. Nach Angaben derselben Autoren liegen die Keimabtötungszeiten der Testbakterien innerhalb von 10 Minuten bis 5 Stunden. Der Zusatz von Serum beeinflusst die Wirksamkeit von Gentamycin nicht wesentlich (11, 12). Nach anderen Untersuchungen (13) kann es dagegen durch Zusatz von Humanserum zu einer 8-fachen Aktivitätsminderung kommen.

Auch diese unterschiedlichen Angaben über Serumzusatz und Wirkungsverlust von Gentamycin machen es deutlich, wie wichtig eine genaue Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration ist, da offenbar eine

Aussage über einen sicher zu erreichenden Serumspegel noch schwer zu treffen ist.

Eine Zunahme der Resistenz bei Versuchen in vitro ergeben nur eine schrittweise und langsame Steigerung, wobei andere Autoren berichten (11), daß der unter anderem eingesetzte *Escherichia coli*-Stamm nach 10 Passagen gegen 400 mcg Gentamycin resistent war.

Da Gentamycin vorwiegend renal ausgeschieden wird, sind bei eingeschränkter Nierenfunktion eine starke Verlängerung der Halbwertszeit, Verzögerung der Elimination und Kumulation die Folge. Dies bedeutet die Gefahr einer zusätzlich möglichen Nephrotoxizität neben der schon oben erwähnten und von anderen Oligosaccharid-Antibiotika her bekannten Ototoxizität.

Dies macht verständlich, daß die bei gesunder Nierenfunktion recht hoch erscheinende toxische Serumkonzentration von 10 mcg/ml (14) bei eingeschränkter Nierentätigkeit rasch erreicht werden kann.

Gerade auch zur Frage der Dosierung von Gentamycin bei Niereninsuffizienz sollte daher die minimale Hemmkonzentration eines Keimes genau bekannt sein, da es dann möglich ist unter Berücksichtigung bakteriologischer Daten und der bekannten Termini des Wirkungsverlustes und Wirkungsrestes exakte Dosierungsrichtlinien geben zu können um bei einem optimalen Therapieerfolg gleichzeitig möglichst weit von der toxischen Grenzschwelle entfernt zu bleiben.

3. STABILITÄT VON GENTAMYCIN

Nach Untersuchungen von Naumann (15) kommt es während der Lagerung von Gentamycinlösungen bei Konzentrationen von 5 mcg/ml im Phosphat-

puffer, ph: 7,0 bzw. Humanserum und Temperaturen von 4°C und 20°C innerhalb der ersten 4 Tage zu Aktivitätsverlusten von circa 10 %. Dann erfolgte bis zu 3 Wochen kein meßbarer Aktivitätsverlust mehr. Nach dieser 3 wöchigen Lagerung zeigte sich Gentamycin dann in Serumlösung deutlich stabiler als im Puffer.

4. FESTLEGUNG DER VERWENDETEN STANDARDS

Die zu Beginn der Arbeit betonte Schwierigkeit geeignete Standards zu finden, zeigte sich in der Abhängigkeit der Gentamycin-Aktivität vom ph-Wert des Testmediums, von der Bakterieneinsaatdichte und vor allem in der anschließend noch ausführlich zu berichtenden Wahl des Testmediums. Wie aus Versuchen und Ergebnissen in anderen Arbeiten hervor geht (16) ist die Aktivität im sauren Milieu geringer als im alkalischen. Ebenso ist der Einfluß der Einsaatstärke auf die Gentamycin-Aktivität, wenn auch im unterschiedlichen Grad, ausgeprägt. Hieraus ist klar zu ersehen, daß durch methodische Variationen von ph und Einsaatdichte die im Röhrchentest ermittelten bakteriostatisch und baktericid wirkenden Konzentrationen erheblich beeinflusst werden können. Deshalb habe ich mich bei den vorliegenden Untersuchungen an die bisherigen Richtlinien nach Ericsson (17) gehalten um mit möglichst genauen bakteriologischen Standards über Gentamycin arbeiten zu können. Es wurde daher in allen nachstehend beschriebenen Versuchen ein ph-Wert von 7,2, wie er naturgemäß im menschlichen Organismus vorkommt, und eine Keimeinsaat von $0,5 \times 10^5$ Keime gewählt.

5. EIGENE ERGEBNISSE

a. VERHALTEN BEI VERSCHIEDENEN MEDIEN

Nach Untersuchungen der ICS (International Collaborative Study) werden die Ergebnisse des Reihenverdünnungstestes und des Hemmhoftestes durch Nährmedien im erheblichen Maße beeinflusst (3). Von den einzelnen Herstellern werden unterschiedliche Nährmedien angeboten und die dabei zusätzlich auftretenden Schwankungen in den Chargen sind mit als Ursachen für nicht immer übereinstimmende Untersuchungsergebnisse anzusehen. Aus diesem Grunde wurden die beiden Standardnährmedien DIFCO und MUELLER-HINTON bei meinen Untersuchungen mit Gentamycin besonders betrachtet. Diese beiden erschienen für meine Arbeit deshalb zweckmäßig, da sie zu den am häufigsten verwendeten Nährmedien in Deutschland gehören.

Beide schienen die Bedingungen, erstens ein möglichst geeignetes Medium für Gentamycin und zweitens ein vielseitiges zu sein, um auch in der Routinearbeit des bakteriologischen Labors bei der Mehrfachtestung verwendet werden zu können, zu erfüllen.

Dabei wurden die Versuche parallel durchgeführt, d.h. jeder Keim wurde mindestens zwei mal auf sein Verhalten in den oben genannten Medien geprüft. Es wurden also zwei Tests angesetzt:

1. Die MIC-Werte mit DIFCO-Bouillon in Korrelation zu den Hemmhofwerten auf DIFCO-Agar.

2. Die MIC-Werte mit MUELLER-HINTON-Bouillon in Korrelation zu den Hemmhofwerten auf MUELLER-HINTON-Agar.

Es kam dabei zu den in graphischen Darstellungen aufgezeichneten

nachfolgenden Ergebnissen. Eine tabellarische Anordnung der Versuchsergebnisse sind in den entsprechenden Tabellen im Anhang zu finden, ebenso die Zusammensetzung der verwendeten Nährmedien.

Abb.1 graphische Darstellung mit DIFCO-Medium



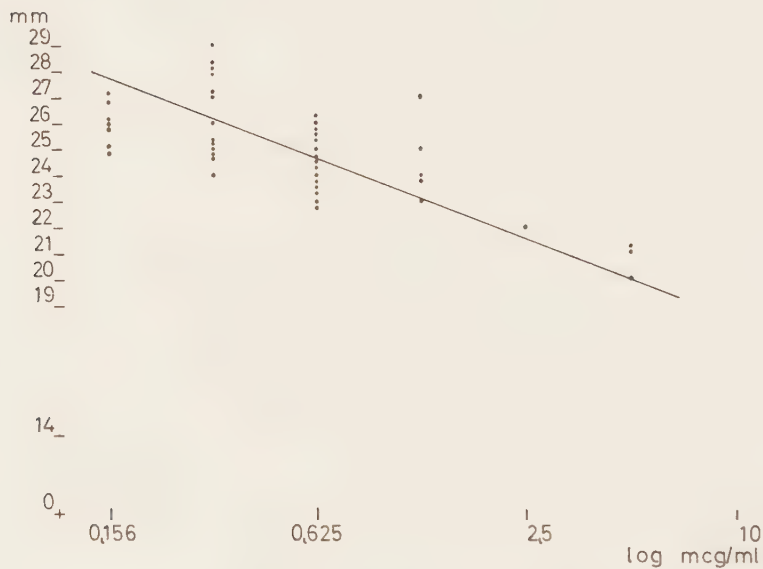
Zu Abb.1:

In den vorliegenden Untersuchungen wurde die in vitro-Aktivität von Gentamycin gegen *E. coli* im DIFCO-Medium untersucht. Dabei zeigte sich, daß folgendes Verteilungsmuster bei den verwendeten Stämmen beim Agardiffusionstest vorlag:

0 mm Hemmhof	10%
6-8 mm Hemmhof	2%
9-10 mm Hemmhof	88%

Mit steigenden Hemmzonendurchmessern kam es zu den entsprechenden Veränderungen der MIC's, was in der Regressionsgeraden dargestellt wurde.

Abb.2 graphische Darstellung mit MUELLER-HINTON-Medium



Die Ergebnisse mit MUELLER-HINTON-Medium wurden genauso aufgetragen wie vorher bei DIFCO. Man sieht, daß auch hier eine deutliche Korrelation von MIC und Hemmzonendurchmesser besteht. Die Testergebnisse wurden hier ebenfalls mittels einer Regressionsgeraden dargestellt.

Es lag folgendes Verteilungsmuster der Stämme vor:

0	mm Hemmhof	6%
14-18	mm Hemmhof	2%
19-24	mm Hemmhof	32%
25-29	mm Hemmhof	60%

b. DIFFERENZEN IM HEMMZONENDURCHMESSER

Obwohl auf die Einhaltung von Versuchsbedingungen und Standards größte Sorgfalt verwendet wurde kam es bei den einzelnen Testungen, wie aus der Anordnung der Meßpunkte in den graphischen Darstellungen zu entnehmen ist, immer wieder zur Streuung der Meßergebnisse. Dabei scheint die Streubreite im deutlichen Zusammenhang mit der Hemmhofgröße zu stehen. So kam es bei kleineren Hemmzonen-durchmessern unter Verwendung von mehreren Testblättchen zu meist gleich großen Durchmessern, die Schwankungen lagen größtenfalls bei ± 1 mm. Mit steigender Hemmhofgröße wuchsen dagegen die Abweichungen bis zu ± 2 mm, gelegentlich sogar noch mehr.

Für dieses Verhalten scheint ein in der Peripherie sich stärker bemerkbar machen von störenden Faktoren verantwortlich zu sein. Daraus folgt, daß große Hemmhöfe auch eine zunehmende Fehlerbreite in der Meßung mit sich bringen.

6. DISKUSSION DER ERGEBNISSE

Nach Arbeiten von Hepding und Wahlig (11), bei denen DIFCO-Agar verwendet wurde, wird über folgendes Testverhalten von Gentamycin im Reihenverdünnungstest und Agardiffusionstest berichtet: Bei fast allen Keimen kam es dort zu Hemmhofgrößen die vom Autor als gut empfindlich bezeichnet werden. Bei einem Vergleich zwischen Hemmhofgröße und minimaler Hemmkonzentration konnte aber keine deutliche Korrelation festgestellt werden. Oft zeigten sogar Keime mit höherer MIC größere Hemmhöfe als solche mit niedrigerer. Außerdem wird darauf hingewiesen, daß im Röhrchentest ein anderes Testverhalten

von Keimen festzustellen war als beim Disc-Test. Da in der bakteriologischen Forschung der Reihenverdünnungstest nach wie vor die einzig geltende Bezugsgröße darstellt, ist der Hemmhoftest bei Gentamycin in seiner Aussagekraft aufs Äußerste in Frage gestellt. Nur bei Standardisierung von Gesamtmethodik und verwendetem Material sind anwendbare Ergebnisse zu erwarten. Es war deshalb sehr wichtig verbindliche Versuchsanordnungen und -bedingungen festzulegen und auf ihre Verwertbarkeit in der praktischen Arbeit zu überprüfen, da es bisher nicht gelungen ist, den Hemmhoftest bei Gentamycin präzise zu beurteilen. Da zweifellos das Nährmedium den stärksten Einfluß ausübt wurden DIFCO und MUELLER-HINTON miteinander verglichen.

Mit DIFCO als Nährmedium ist eine Beziehung von MIC und Hemmhof bei meinen Ergebnissen festzustellen, die aber eine therapeutische Konsequenz für den Kliniker schwierig macht, da die Werte der minimalen Hemmkonzentration erheblich über der therapeutisch realisierbaren Serumkonzentration liegen. Sie bewegen sich wie aus Abb. 1 zu ersehen ist in einer Größenordnung von 5 bis 15 mcg/ml, wogegen nur ein mittlerer Serumspiegel von circa 1,37 mcg/ml realisierbar ist. Es ist somit zwar eine Beziehung von MIC und Hemmhof vorhanden, die jedoch für den Kliniker nicht verwertbar ist. Mit anderen Worten, der Disc-Test zeigt zwar eine unterschiedliche Empfindlichkeit der Keime gegen Gentamycin an, die auch in ihrer Größenordnung den bakteriologischen Erfahrungen entsprechen würden, die dazu ermittelten MIC's lassen aber auf Grund ihrer Höhe keine Richtlinien für eine therapeutische Dosierung zu.

Nach Hepding und Wahlig (11) wird folgendes Bewertungsschema für

Gentamycin zugrunde gelegt:

voll	empfindlich : Hemmzonen über	18 mm
gut	empfindlich : Hemmzonen zwischen	10 und 18 mm
schwach empfindlich :	Hemmzonen Zwischen	4 und 10 mm
resistent	: Hemmzonen unter	4 mm

Wende ich dieses Bewertungsschema auf meine Versuche mit DIFCO-Agar an, so liegen circa 95 % der ausgetesteten Keime im Bereich von 8 bis 12 mm Hemmhofdurchmesser, d.h. sie sind für Gentamycin als empfindlich zu betrachten.

Vergleiche ich aber wie schon gesagt, die minimalen Hemmkonzentrationen dieser Keime mit den erreichbaren mittleren Serumspiegeln von Gentamycin (circa 1,37 mcg/ml), so müssen diese fast alle als resistent bezeichnet werden. Für dieses Mißverhältnis ist offensichtlich das für Gentamycin ungeeignete Nährmedium DIFCO verantwortlich zu machen.

Bei Verwendung von MUELLER-HINTON-Medium kam es bei meinen Versuchen mit denselben Keimen zu einer guten Korrelation von Röhren- und Agardiffusionstest. Die Keime lagen nach ihren minimalen Hemmkonzentrationen auch im Reihenverdünnungstest in einem Empfindlichkeitsbereich wie er nach den Hemmhofgrößen zu erwarten war. Auch liegen die prozentualen Anteile der empfindlichen und resistenten Keime genau in den Bereichen wie in den oben zitierten Untersuchungen (11), bei denen 95 % als empfindlich galten.

Nach diesen Angaben aus der Literatur und der Erfahrung, daß sich Gentamycin in der Klinik als gut empfindlich gegenüber Escherichia

coli erwiesen hat, stellt MUELLER-HINTON-Medium also offenbar das optimale Nährmedium für Gentamycin dar.

Um das eigentliche Ziel der Arbeit zu erreichen war also eine weitere Untersuchung mit DIFCO nicht mehr notwendig. Die Ausarbeitung eines Dosierungsschemas für den Kliniker nach Ergebnissen aus den bakteriologischen Tests wurde mit Hilfe der Testreihen, die mit MUELLER-HINTON durchgeführt wurden erarbeitet.

Wie bereits oben erwähnt wurde, ist eine deutliche Beziehung zwischen Hemmzonendurchmesser und minimaler Hemmkonzentration aufzuzeigen. Die Regressionsgerade gibt jedoch vorerst nur eine rein mathematische Beziehung an, denn durch die Vielzahl der Meßergebnisse wird es möglich eine solche Gerade herauszurechnen. Diese darf jedoch nicht ohne weiteres als eine Eichgerade für den Blättchentest angesehen werden, denn in Anbetracht der relativ großen Streubreite kann ein Hemmhofwert nicht einer einzelnen MIC zugeordnet werden. Betrachtet man nämlich die Meßergebnisse einzeln, so kann man zeigen, daß einem Hemmhofwert der beispielsweise das arithmetische Mittel von 3 Hemmzoneneinzelmessungen darstellt, mehrere MIC's innerhalb einer gewissen Streubreite zugeordnet werden können. Diese Streuung ist einerseits auf den biologischen Faktor im Bakterienwachstum, andererseits auf physikalische Größen beim Versuch zurückzuführen.

Ich bevorzugte deshalb bei der Darstellung der Versuchsergebnisse eine tabellarische Zuordnung von Hemmhof- und MIC-Werten, da in der täglichen Routine beim bakteriologischen Test stets mit Einzelmessungen gearbeitet wird. Die Regressionsgerade zeigt meiner Ansicht

nach nur einen idealen Zusammenhang auf, dem jedoch in der praktischen Anwendung erhebliche Einschränkungen auferlegt werden müssen. Ein Beispiel hierfür ist die Tatsache, daß aus der Regressionsgeraden keine Streubreiten abzulesen sind.

Aus der folgenden Tabelle ist es möglich von einem Hemmhofwert auf die höchst wahrscheinlich entsprechende minimale Hemmkonzentration zu schließen.

Tab.1

mm ₊	20-10	5	2,5	1,25	0,62	0,31	0,15
0-13							
15							
17							
19							
21		80%	20%				
		75%	25%				
			80%	20%			
23				25%	75%		
				25%	62,5%	12,5%	
25				7%	47%		> 46%
					43%		> 67%
27						40%	> 60%
						80%	20%
29						80%	20%
31							

Handhabung der Tabelle:

Bei der Benutzung der Tabelle wird davon ausgegangen, daß allein der Hemmhoftest ausgeführt wird. Nach meiner Erfahrung sollten bei jeder Testung eines bestimmten Keimes wenigstens 3 Blättchen aufgelegt werden. Nimmt man also beispielsweise einen Keim, der im Disc-Test Hemmzonendurchmesser von 23 - 25 - 25 mm aufweist, so können diesem Keim MIC-Werte von 1,56 bis 0,15 mcg/ml zugeordnet werden. Dieser Bereich läßt sich nun durch folgende Überlegungen einengen: Bei einem Hemmzonendurchmesser von 25 mm liegen die meisten Keime - in diesem Fall 47 % - bei einer MIC von 0,62 mcg/ml. Bei 24 mm Hemmzonendurchmesser liegen ebenfalls die meisten Keime - in diesem Fall 62,5 % - bei einer MIC von 0,62 mcg/ml. Der relativ exakte Wert scheint also im Bereich um 0,62 mcg/ml zu liegen. Da von den 3 Meßwerten der höchste 25 mm, der niedrigste 23 mm beträgt ist anzunehmen, daß die genaue MIC sicher nicht weniger als 0,62 mcg/ml beträgt, sondern eher an der oberen Grenze beim Übergang von 0,62 zu 1,25 mcg/ml zu erwarten ist (siehe Tabelle 1).

Für eine therapeutische Richtlinie wäre in diesem Fall also eine minimale Hemmkonzentration von 0,62 mcg/ml oder etwas höher anzugeben.

Betragen beim Agardiffusionstest die Hemmzonendurchmesser dagegen 25 - 25 - 26 mm, so liegt der Wert zwischen 0,62 und 0,31 mcg/ml, also eher an der unteren Grenze von 0,62 mcg/ml.

7. KRITIK

Mit dem vorigen wurde versucht die Verwertbarkeit des Hemmzonen-durchmessers für eine praktische Anwendung zu untersuchen.

Nach meinen Erfahrungen besonders hinsichtlich der Schwierigkeit mit der Standardisierung der Versuchsbedingungen muß gesagt werden, daß der Agardiffusionstest eine relativ grobe Methode zur Feststellung von Sensibilitätsgraden von Keimen ist. Besonders bei Gentamycin, wie die vergleichenden Untersuchungen mit DIFCO und MUELLER-HINTON gezeigt haben, können unterschiedliche Standards zu erheblichen Veränderungen im Ergebnis führen. Trotzdem dürfte nach meinen Resultaten die Genauigkeit des Hemmhoftestes im erheblichen Maße gesteigert worden sein. Es ist mit Hilfe der vorigen Tabelle (Tab. 1) offenbar möglich allein vom Disc-Test ausgehend auf eine ziemlich exakt zu bestimmende MIC zu schließen. Leider konnte auch bei äußerst sorgfältiger Einhaltung der Standards eine relativ gro-ße Streuung der Meßwerte nicht verhindert werden, wenn man in Betracht zieht, daß Voraussetzungen für die Routinearbeit im bakteriologischen Labor geschaffen werden sollten. Trotzdem erscheint es doch als wesentlicher Fortschritt, daß nunmehr von der bisher sehr ungenauen Angabe, ein Keim ist "resistent" oder "empfindlich", auf die konkrete Angabe eines MIC-Wertes übergegangen werden kann.

V. NITROFURANTOIN (FURADANTIN^R)

In der Behandlung bakterieller Infektionen der ableitenden Harnwege hat Nitrofurantoin einen festen Platz eingenommen, da die hohen Harnkonzentrationen dieser Substanz zu der angestrebten antibakteriellen Wirkung führen.

Durch die Tatsache, daß nur sehr geringe Serumspiegel wegen der raschen Eliminationsgeschwindigkeit erreicht werden können, unterscheidet sich dieses Chemotherapeutikum von den anderen üblichen Antibiotika. Der Wirkungsbereich von Furadantin umschließt neben grampositiven und gramnegativen Keimarten auch eine antimykotische und Trichomonadenhemmende Wirkung (18).

Als Nebenwirkungen sind vor allem Polyneuritiden, allergische Reaktionen und in Einzelfällen Hämopathien zu nennen (19).

1. KLINISCHE UND PHARMAKOLOGISCHE EIGENSCHAFTEN

Furadantin unterliegt mit einer Halbwertszeit im Blut von 19,7 Minuten (20) einer sehr raschen Elimination. Es werden nach oraler oder parenteraler Verabreichung innerhalb von 2 bis 8 Stunden 50 % der Dosis unverändert mit dem Harn ausgeschieden (21, 22, 23, 24, 25). Die im Harn auftretenden Konzentrationen aktiven Nitrofurantoins erreichen 200 mcg/ml und mehr (20). Dagegen lassen sich unter physiologischen und üblichen therapeutischen Bedingungen keine bedeutsamen Blut- und Gewebsspiegel erzielen (20, 21, 22). Bei einer Tagesdosis von 5 bis 7 mg/kg Körpergewicht erreichen die Blutspiegel nur Werte von 2,23 mcg/ml (22).

Bei eingeschränkter Nierenfunktion finden sich hingegen nur sehr geringe Harnkonzentrationen, dafür aber deutlich erhöhte Blutspiegel auf Werte von 1,3 bis 2 bis 5 mcg/ml. Es wird dabei die bakteriostatische MIC unterschritten, das bedeutet sie bleibt damit unter der therapeutischen Wirkgrenze (18). Die erhöhten Blutspiegel können zu den oben erwähnten Nebenwirkungen führen. Deshalb ist ebenso wie bei dem vorher besprochenen Gentamycin vor allem bei Niereninsuffizienz ein genaues Dosierungsschema wichtig um eine Kumulation zu vermeiden.

2. BAKTERIOLOGISCHE EIGENSCHAFTEN

Furadantin wirkt auf Keime sowohl im Ruhe- als auch im Vermehrungsstadium (26, 27). Die Wirkung ist bei niedrigen Konzentrationen vorwiegend bakteriostatisch (26, 27), wird aber bei den im Urin erreichbaren höheren Konzentrationen -maximale Spiegel von durchschnittlich 250 mcg/ml werden während der ersten beiden Stunden nach Applikation erreicht- bakterizid.

Den Kohlehydratstoffwechsel der Mikroorganismen beeinflusst Furadantin enzymatisch durch Hemmung des Wasserstofftransportes und unterscheidet sich durch diesen Wirkungsmechanismus wesentlich von anderen Chemotherapeutika.

Für die Bewertung der Urinspiegel eines Chemotherapeutikums hinsichtlich der antibakteriologischen Wirksamkeit sind neben der originären Empfindlichkeit der Erreger von Harnwegsinfektionen gegenüber dem Chemotherapeutikum, wie sie im Reagenzglasversuch zur Bestimmung der bakteriostatischen Wirkung ermittelt wird, als zweites vor allem die aktuelle Empfindlichkeit dieser Keimarten, wie sie sich aus Re-

sistenzbestimmungen ergeben von grundlegender Bedeutung. Nach Arbeiten verschiedener Autoren (28, 29, 30) ist die Fähigkeit sensibler Keime zur Resistenzbildung gegen Furadantin relativ gering und in vitro daher nur verzögert zu erreichen.

3. PHYSIKALISCHE EIGENSCHAFTEN

Die Löslichkeit in Wasser und Harn beträgt laut Kähler (31) bei Raumtemperatur etwa 20 mg%, im alkalischen Milieu steigt sie bis zu 230 mg% an. Das bedeutet, daß die Löslichkeit stark vom ph-Wert abhängig ist. In vivo können deshalb im sauren Harn Konzentrationen bis 40 mg% gut erreicht werden, da die Lösung von Nitrofurantoin bei schwach alkalischem ph-Wert des Blutes und Vorharns mit nachfolgender Ansäuerung im physiologischen Bereich noch zu keiner Auskristallisation führt. An einem Beispiel erläutert heißt dies: wird beispielsweise bei einem ph-Wert von 7,5 eine Lösung von 90 mg% bereitet und dann bis auf ph 5 angesäuert, so tritt in vitro auch nach 6 Tagen noch keine Kristallbildung auf. Hierdurch erklärt sich, daß die Lösung, die im schwach alkalischen Milieu des Blutes und Primärharns in relativ hoher Konzentration vorliegt (bis zu 40 mg%) auch bei zunehmender Säuerung des Urins stabil bleibt und nicht auskristallisiert.

4. EIGENE ERGEBNISSE

In Analogie zu den Untersuchungen bei Gentamycin wurden Versuchsreihen mit Furadantin und Escherichia coli durchgeführt.

Das verwendete Nährmedium war DIFCO, welches sich bei der Testung mit Furadantin bewährt hat (29). Es sollte auch hier versucht werden genauere Angaben in Form von MIC-Werten über das bakteriologische

Testergebnis zu machen und damit therapeutische Richtlinien aufzustellen.

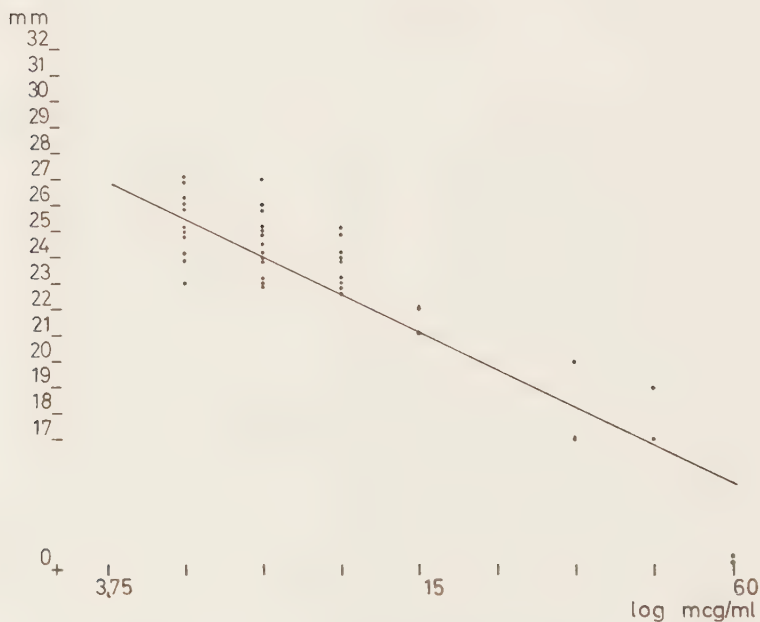
Eine wesentliche Erleichterung bei der Beurteilung der Anwendbarkeit von Furadantin aus der Sicht der Bakteriologie ergibt sich aus der Tatsache, daß die therapeutisch wirksamen Konzentrationen unmittelbar im Hohlraumssystem der Niere sind. Das bedeutet, daß viele Faktoren, die die therapeutische Wirksamkeit bei einem Medikament mit einem Serumspiegel beeinflussen, wegfallen. Die therapeutisch relevante Konzentration kann unmittelbar im Urin gemessen werden. Trotzdem können in vitro-Ergebnisse nur mit Einschränkungen auf die Verhältnisse in vivo übertragen werden (29).

Die Verdünnungsreihen wurden beginnend mit der höchsten Konzentration von 100 mcg/ml abfallend in der geometrischen Reihe aufgestellt. Unter genauer Einhaltung der Standards, auf deren Wichtigkeit schon mehrfach hingewiesen wurde, wurden die Versuchsreihen ausgeführt und anschließend in der folgenden Abbildung (Abb. 3) graphisch dargestellt.

Auch hier wurde jeder Keim mindestens zweimal auf sein Verhalten in DIFCO-Medium geprüft, d.h. die MIC-Werte wurden wieder in Korrelation zu den Hemmhofwerten gesetzt.

Eine tabellarische Anordnung der Versuchsergebnisse ist in der entsprechenden Tabelle 3 im Anhang zu finden. Bei der Verwendung der Testblättchen hielt ich mich wie schon bei Gentamycin an die Empfehlungen des TCS, wo Testblättchen mit einer Beschickung von 100 mcg vorgeschlagen werden.

Abb.3 graphische Darstellung mit DIFCO-Medium



In den vorliegenden Untersuchungen wurde wie schon bei Gentamycin die in vitro-Aktivität von Nitrofurantoin gegen E.coli mit DIFCO-Medium untersucht. Das Verteilungsmuster der Stämme war wie folgt:

0-16 mm Hemmhof	2,2%
17-21 mm Hemmhof	8 %
22-27 mm Hemmhof	81,8%
28-32 mm Hemmhof	8 %

Die Regressionsgerade zeigt einen deutlichen Zusammenhang von MIC und Hemmzonendurchmesser

5. DISKUSSION DER ERGEBNISSE

Aus den dargestellten Ergebnissen in Abb. 3 geht hervor, daß die Empfindlichkeiten im Bereich von 3,75 bis 40 mcg/ml liegen. Keime, die keinen Hemmhof mehr erzeugten, lagen im Röhrchentest bei 60 mcg/ml. Auffällig war dann, daß die *Escherichia coli*-Keime, sobald sie bei 60 mcg/ml nicht gehemmt wurden, auch bei höheren Konzentrationen bis zu 100 mcg/ml ebenfalls keine Reaktion bei der in vitro-Testung zeigten. Dies steht im Gegensatz zu anderen Autoren, die eine absolute Resistenzgrenze erst bei einer in vitro-Konzentration von 100 mcg/ml angeben (32). Bei meinen Ergebnissen ist also die absolute Resistenzgrenze in vitro bei 60 mcg/ml anzugeben.

In guter Übereinstimmung mit den Resultaten anderer Arbeiten dagegen wurde auch bei meinen Untersuchungen ein hoher Prozentsatz der untersuchten Keime durch Furadantin gehemmt. Dies bestätigt die gute Wirksamkeit gegen Erreger von Harnwegsinfektionen, die zu 75 % aus *Coli*- und coliformen Keimen bestehen (18).

Nach Vömel (29) ist es nur möglich auf Grund des Agardiffusionstestes die qualitative Bewertung "resistent" oder "sensibel" anzugeben. Es wurden dort die kleinen Hemmzonen als resistent, die großen als sensibel definiert. Bei meinen Untersuchungen war keine solche Unterteilung der Hemmhöfe feststellbar, die eine Gruppeneinteilung rechtfertigen würde. Die Keime, die mit ihrer MIC in einem therapeutischen Wirkspiegel lagen wiesen immer deutliche Hemmhöfe auf.

Es werden zwar beim Agardiffusionstest keine exakten MIC-Werte ermittelt, aber meine Ergebnisse zeigen doch vom Hemmhof ausgehend eine deutliche Gliederung in mehrere Gruppen unterschiedlicher Empfindlich-

keit.

Wie aus der Regressionsgeraden zu ersehen ist, besteht also auch bei Nitrofurantoin eine deutliche Beziehung zwischen MIC und Hemmhof, so daß es möglich wird von Hemmhofwerten ausgehend auf eine ungefähre MIC zu schließen.

Für eine übersichtliche und praktische Anwendung im bakteriologischen Labor erscheint mir wieder die Darstellung der Resultate in Form einer Tabelle mit Hilfe der vom Hemmhof ausgehend eine Bestimmung der MIC möglich ist, am geeignetsten.

Tab.2

mm	60	40	30	20	15	10	7,5	7,5	3,75	mcg/ml
0-16										
18	50%	50%								
20		80%	> 20%							
22			80%	> 20%						
24			50%	> 20%						
26				60%	> 40%					
28				80%	> 20%					
30					50%	33%	17%			
32					25%	58%	17%			
					15%	53%	31%			
						40%	60%			
						34%	66%			
							50%	50%		
							50%	50%		
							> 20%	80%		
							> 20%	80%		

Die Benutzung der Tabelle ist ausführlich bei dem vorher besprochenen Gentamycin (Seite 24) beschrieben.

6. KRITIK

Bei Nitrofurantoin konnte meiner Ansicht nach die Verwendbarkeit des Hemmhofwertes angehoben werden. Zumindest ist auch bei kritischer Betrachtung meiner Ergebnisse eine Erweiterung der bisher üblichen Beurteilung "resistent" oder "sensibel" möglich, und zwar dahingehend, daß eine deutliche Abstufung der Sensibilitätsgrade erkennbar ist. Werden die Ergebnisse aus dem Disc-Test mit denen des Röhrchentestes in Beziehung gebracht, so ist eine ziemlich genaue Angabe der minimalen Hemmkonzentration mit Hilfe der aufgestellten Tabelle möglich. In wie weit diese Werte jedoch für eine therapeutische Dosierung verbindlich gemacht werden können ist weiterhin problematisch, da Furadantin keine wirksamen Serumspiegel besitzt.

Die therapeutisch wirksamen Konzentrationen greifen in erster Linie unmittelbar im Hohlraumsystem der Niere an und lassen sehr schwer Rückschlüsse auf die Wirksamkeit auf Keime, die sich innerhalb des Nierengewebes befinden zu. Neuerdings wird zwar eine "non-ionic-diffusion" (33, 34, 35) von Nitrofurantoin in das umgebende becken-nahe Nierengewebe angenommen, beim Menschen ist aber der Nachweis bisher nicht gelungen. Es können daher die MIC-Werte lediglich als Richtlinien für eine Mindestkonzentration im Harn verstanden werden.

VI. ZUSAMMENFASSUNG

Die bakteriologische Resistenzbestimmung ist eine notwendige Voraussetzung für eine gezielte Therapie von Infektionskrankheiten. Es ist also ungedingt erforderlich Testmethoden festzulegen die auch in der praktischen Durchführung zuverlässig sind. Da der Hemmhofwert sich zweifellos als eine Meßgröße für die Empfindlichkeit eines Bakteriums bewährt hat, seine Aussagekraft aber nur grobe Beurteilung zuließ, schien es mir nötig zu überprüfen in wie weit differenzierte Angaben aus einem Hemmzonendurchmesser gemacht werden können. Die vorherigen Versuchsreihen dienten dazu einem Hemmhof in eine möglichst genaue Beziehung zu einer MIC aus dem Reihenverdünnungstest zu bringen.

Einer der ausschlaggebenden Punkte dabei war ein möglichst großes Maß an Standardisierung der Versuchsbedingungen zu erreichen, die aber gleichzeitig bei der praktischen Durchführung realisierbar sein sollten. Nach anderen Arbeiten wurden diesbezüglich mehrere Vorschläge gemacht, die mir jedoch für die tägliche Routine des bakteriologischen Labors zu aufwendig erscheinen und damit nicht durchführbar.

Einen wesentlichen Einfluß auf die Fehlerquote beim Resultat des Hemmhoftestes hat insbesondere bei Gentamycin das verwendete Nährmedium. An diesem Beispiel konnte gezeigt werden, daß unterschiedliche Nährmedien einen so erheblichen Einfluß auf das Ergebnis der Resistenzbestimmung durch den Agardiffusionstest hervorrufen können, daß bei einer vergleichenden Betrachtung der Resultate aus Reihenverdünnungstest und Disc-Test zwar eine Beziehung der Meßgrößen vorhanden war,

diese jedoch keinen Rückschluß auf eine MIC vom Hemmhof-Test ausgehend zuließ. Bei der alleinigen Betrachtung des Hemmhof-Testes unter Verwendung von DIFCO-Agar gibt es klare Abstufungen in der Sensibilität, die sich im Hemmzonendurchmesser ausdrückt. Die Hemmhöfe lagen in der Größenordnung von 9 bis 12 mm. Im Röhrchentest führten dieselben Keime in der weitaus häufigsten Zahl zu MIC-Werten, die außerhalb der therapeutisch erreichbaren Größe lagen. Eine Beziehung, die eine Angabe einer therapeutischen Dosierung rechtfertigen würde, konnte deshalb bei der Verwendung mit DIFCO-Medium nicht aufgestellt werden.

DIFCO scheidet also als Medium beim Hemmhof-Test mit Gentamycin aus.

Bei der Verwendung von MUELLER-HINTON-Agar waren die Hemmzonendurchmesser deutlich größer und lagen bei gleicher Blättchenbeschriftung (10 mcg) im Bereich von 17 bis 32 mm. Im parallellaufenden Reihenverdünnungstest war eine gute Übereinstimmung mit den zugeordneten MIC-Werten gegeben. Die minimalen Hemmkonzentrationen lagen im Bereich von einer Größenordnung wie ich sie nach dem Hemmhof-Test erwarten konnte. Es kam hier nicht zu Diskrepanzen zwischen beiden Tests wie bei der Verwendung von DIFCO-Medium.

Deshalb glaube ich, daß von MUELLER-HINTON die zuverlässigsten und am besten zu verwertenden Ergebnisse zu erwarten sind.

Die in vielen Arbeiten über den Hemmhof- und Röhrchentest übliche Darstellung der Versuchsergebnisse mit Hilfe einer Regressionsgeraden kann wenn man den Disc-Test kritisch betrachtet lediglich als eine theoretische Demonstration der Korrelation von Agardiffusions- und

Reihenverdünnungstest angesehen werden. Eine Bedeutung für die praktische Arbeit im bakteriologischen Labor erscheint mir deshalb sehr zweifelhaft, da die Hemmzonendurchmesser trotz günstigster Umstände bei der Durchführung der Versuche größere Streubreiten aufweisen. Würde man eine Regressionsgerade wie häufig vorgeschlagen wird als eine Art Eichgerade verwenden, so würden geringe Änderungen an mm-Hemmhof erhebliche Veränderungen in den zuzuordnenden MIC-Werten nachsichziehen, wie aus der graphischen Darstellung der Regressionsgeraden hervorgeht. Mir scheint es deshalb richtiger bei der Beurteilung des Disc-Testes die auftretenden Streuungen bei den Einzelmessungen zu berücksichtigen. Ich versuchte deshalb neben der Darstellung meiner Ergebnisse mit Nitrofurantoin und Gentamycin über die übliche Regressionsgerade hinaus noch eine zusätzliche Darstellung der Resultate mittels einer Tabelle.

In dieser werden ebenfalls bestimmten Hemmzonendurchmessern MIC-Werte zugeordnet. Der wesentliche Unterschied besteht aber darin, daß diese Tabelle den Anforderungen in der praktischen Labortestung meiner Ansicht nach gerechter wird, weil von einem bestimmten Hemmhof ausgehend neben dem Häufigkeitsgipfel einer MIC eines Keimes auch dessen Streubreiten mit berücksichtigt werden können. Denn außer dem in Prozent angegebenen Häufigkeitsgipfel können auch die Keime berücksichtigt werden, deren MIC entweder ober- oder unterhalb des MIC-Wertes liegen der dem gemessenen Hemmhof am häufigsten zugeordnet wurde. Außerdem läßt sich diese Tabelle dahingehend erweitern, daß sie als Grundlage für die Angabe von Richtlinien für einen klinischen Erfolg beim therapeutischen Einsatz der betreffenden Substanz dienen kann:

Aus der Tabelle lassen sich auf Grund von Hemmzonendurchmesser MIC-Werte ermitteln, die mit hoher Wahrscheinlichkeit -unter Einbeziehung und Berücksichtigung der Fehlerbreite wie sie durch den Hemmhoftest gegeben ist- der tatsächlichen MIC entsprechen. Bezüglich eines Dosierungsvorschlages für den Kliniker kann dieser MIC-Bereich die Bezugsgröße für die Dosierung sein. In Anlehnung nach Ergebnissen von Chisholm (36) kann der mittlere $t/2$ -Blutspiegel (= Antibiotikaspiegel in der Mitte des Applikationsintervalles) als Annäherungswert für die extravasalen Gewebespiegel angesehen werden, da der Antibiotikaspiegel in der interstitiellen Gewebsflüssigkeit 4 Stunden nach der Applikation den Blutspiegeln weitgehend entsprechen. Bei der üblichen Normaldosierung sind nun die Erreger als empfindlich zu bewerten, deren MIC gleich oder niedriger ist als der mittlere $t/2$ -Blutspiegel.

Aus diesen beiden Größen: MIC und $t/2$ -Blutspiegel können vom Kliniker Dosierungsgrößen entnommen werden. Die Aufgabe des Bakteriologen ist es diesem eine möglichst genaue MIC des zu testenden Keimes anzugeben. Nach der Höhe der betreffenden MIC kann der therapeutische Einsatz des Medikamentes dann individuell erfolgen.

Weiterhin ist zu der Arbeit zu bemerken, daß die angegebenen Tabellen, die lediglich eine Modellfunktion erfüllen sollen und können, in weiterführenden Versuchen ausgebaut werden müßten, was wegen der Aufwendigkeit in dieser Arbeit nicht ausgeführt werden konnte. Insbesondere müßten auch weitere Keimgruppen Verwendung finden.

VII. ANHANG

1. ZUSAMMENSETZUNG DER VERWENDETEN NÄHRMEDIEN

DIFCO:	Bacto beaf extr.	1,5 g/l
	Bacto yeast extr.	3,0 "
	Casitone	4,0 "
	Peptone	6,0 "
	Dextrose	1,0 "
	Bacto Agar	15,0 "
	ph 6,6 bei 25°C	

MUELLER-HINTON:	Fleischinfus	2,0 g/l
	Caseinhydrolysat,	17,5 "
	säurehydrolysiert	
	Stärke, wasserlöslich	1,5 "
	Agar-Agar	15,5 "

2. VERDÜNNUNGSREIHEN VON GENTAMYCIN

Verdünnung mit sterilem Puffer, ph: 7,2

RVT	1. Reihe	2. Reihe
1	40 mcg	30 mcg
2	20 mcg	15 mcg
3	10 mcg	7,5 mcg
4	5 mcg	3,75 mcg
5	2,5 mcg	1,87 mcg
6	1,25 mcg	0,93 mcg
7	0,62 mcg	0,46 mcg
8	0,31 mcg	0,23 mcg
9	0,15 mcg	0,11 mcg
10	0,07 mcg	0,05 mcg

3. TABELLARISCHE ANORDNUNG DER VERSUCHSERGEBNISSE MIT GENTAMYCIN

a. MIT DIFCO-MEDIUM

Blättchenbeschickung 1o (3o) mcg ZuTab. 1

E.coli	mcg/ml	mm	mcg/ml	mm
C1	5/3,75	1o,1o,1o(11,11,11)	5/3,75	9, 9, 9 (1o,11,11)
C2	2,5/1,87	9, 9, 9(1o,1o,1o)	2,5/1,87	1o,1o,1o (1o,11,11)
C3	2,5/1,87	1o,1o,1o(1o,11,11)	2,5/1,87	1o,1o,1o (11,11,12)
C4	1o/7,5	9, 9,1o(1o,1o,1o)	1o/15	9,1o,1o (11,11,12)
C5	5/7,5	9,1o,1o(11,11,12)	5/7,5	1o,1o,1o (11,11,12)
C6	1o/7,5	9,1o,1o(1o,11,11)	1o/7,5	9, 9, 9 (1o,1o,11)
C7	4o/3o	o, o, o(o, o, o)	4o/3o	o, o, o (o, o, o)
C8	1o/7,5	1o,1o,1o(11,11,11)	15/1o	9, 9, 9 (1o,1o,1o)
C9	4o/3o	o, o, o(o, o, o)	4o/3o	o, o, o (o, o, o)
C1o	4o/3o	o, o, o(o, o, o)	4o/3o	o, o, o (o, o, o)
C11	1o/7,5	9, 9,1o(1o,1o,1o)	1o/15	9, 9, 9 (1o,1o,1o)
C12	1o/7,5	9,1o,1o(11,11,11)	5/7,5	1o,1o,1o (11,11,11)
C13	2,5/5	12,12,12(13,13,13)	2,5/1,87	12,12,12 (13,13,14)
C14	2,5/5	11,11,11(12,12,12)	2,5/5	12,12,12 (13,13,13)
C15	5/3,75	9, 9,1o(1o,11,11)	5/7,5	1o,1o,1o (11,11,11)
C16	5/7,5	9, 9, 9(1o,1o,1o)	1o/7,5	9, 9, 9 (1o,1o,1o)
C17	5/7,5	9,1o,1o(11,11,11)	5/7,5	1o,1o,1o (11,11,11)
C18	1o/7,5	9, 9, 9(1o,1o,1o)	5/7,5	9, 9, 9 (1o,1o,1o)
C19	1o/7,5	9, 9, 9(1o,1o,11)	1o/7,5	8, 8, 8 (9, 9, 9)
C2o	5/7,5	9, 9, 9(1o,1o,1o)	1o/7,5	9, 9, 9 (1o,1o,1o)
C21	4o/3o	o, o, o(o, o, o)	4o/3o	o, o, o (o, o, o)

E.coli	mcg/ml	mm	mcg/ml	mm
C22	5/7,5	9, 9, 9 (10,10,10)	10/7,5	9, 9, 9 (10,10,10)
C23	10 /7,5	9, 9, 9 (10,10,10)	10/7,5	9, 9, 9 (10,10,10)
C24	40/30	0, 0, 0 (0, 0, 0)	40/30	0, 0, 0 (0, 0, 0)
C25	5/7,5	10,10,10 (11,11,11)	5/7,5	10,10,10 (11,11,11)
C26	10/7,5	9, 9, 9 (10,10,10)	10/15	9, 9,10 (11,11,11)
C27	20/15	10,10,10 (11,11,11)	20/15	9, 9,10 (11,11,11)
C28	10/7,5	9, 9,10 (11,11,11)	20/15	10,10,10 (11,11,11)
C29	20/15	10,10,10 (11,11,11)	20/15	9, 9, 9 (10,10,10)
C30	5/7,5	9,10,10 (11,12,12)	10/7,5	10,10,10 (11,11,11)
C31	5/7,5	10,10,10 (11,11,11)	10/7,5	10,10,10 (11,11,11)
C32	5/7,5	10,10,10 (11,11,11)	5/7,5	10,10,10 (11,11,11)
C33	10/7,5	9, 9, 9 (10,10,10)	10/7,5	9, 9,10 (11,11,11)
C34	5/3,75	10,10,10 (11,11,11)	5/7,5	10,10,10 (11,11,11)
C35	10/7,5	10,10,10 (11,11,11)	10/7,5	10,10,10 (11,11,11)
C36	5/7,5	9, 9,10 (10,10,10)	10/7,5	9,10,10 (10,10,10)
C37	5/7,5	9, 9, 9 (10,10,10)	10/7,5	9, 9, 9 (10,10,10)
C38	5/7,5	10,10,10 (10,10,11)	10/7,5	10,10,10 (11,11,11)
C39	20/15	9, 9, 9 (9, 9, 9)	20/15	9, 9, 9 (9, 9,10)
C40	10/15	9, 9, 9 (10,10,10)	10/7,5	10,10,10 (10,11,11)
C41	10/7,5	9,10,10 (11,11,11)	5/7,5	10,10,10 (11,11,11)
C42	5/7,5	10,10,10 (11,11,11)	10/7,5	9, 9, 9 (10,10,10)
C43	20/15	10,10,10 (10,11,11)	20/15	10,10,10 (11,11,11)
C44	10/15	10,10,10 (11,11,11)	10/7,5	10,10,10 (11,11,11)
C45	10/15	10,10,10 (10,10,11)	10/7,5	10,10,10 (11,11,11)
C46	10/15	8, 8, 8 (9, 9, 9)	10/15	8, 8, 8 (9, 9, 9)

E.coli	mcg/ml	mm	mcg/ml	mm
C47	5/7,5	9, 9, 9(10,10,10)	5/7,5	10,10,10(11,11,12)
C48	5/3,75	11,11,11(12,12,12)	5/3,75	11,11,11(12,12,12)
C49	5/7,5	11,11,11(12,12,13)	10/7,5	10,10,10(11,11,12)
C50	5/7,5	10,11,11(12,12,13)	10/7,5	10,10,11(11,11,12)

b. MIT MUELLER-HINTON-MEDIUM

Blättchenbeschickung 10 (30) mcg Zu Tab. 2

E.coli	mcg/ml	mm
C1	0,625	23,23,24(25,25,26)
C2	0,312	23,23,24(26,26,26)
C3	0,625	24,25,25(26,27,27)
C4	0,625	25,26,26(28,28,29)
C5	0,625	24,25,25(27,27,28)
C6	2,5	21,22,22(23,23,23)
C7	5	20,20,20(22,22,22)
C8	0,312	26,27,27(29,29,30)
C9	10	0, 0, 0(0, 0, 0)
C10	0,625	24,24,25(26,27,27)
C11	1,25	24,24,24(26,26,26)
C12	1,25	23,23,24(25,25,25)
C13	0,312	28,28,28(30,30,31)
C14	0,625	24,24,24(26,26,27)
C15	0,625	24,25,25(27,27,28)

E.coli	mcg/ml	mm
C16	0,625	24,24,24 (26,26,27)
C17	0,625	25,25,25 (27,27,27)
C18	0,15	26,26,26 (27,29,29)
C19	0,312	27,27,28 (29,29,29)
C20	0,625	25,26,26 (27,27,28)
C21	20	0, 0, 0 (0, 0, 0)
C22	0,15	26, 27,27(29,29,29)
C23	0,625	23,23,23 (26,26,27)
C24	10	0, 0, 0 (0, 0, 0)
C25	0,312	27,29,29 (30,30,31)
C26	1,25	24,24,24 (26,26,27)
C27	5	21,21,22 (22,22,23)
C28	5	20,20,20 (22,22,23)
C29	5	21,21,22 (23,23,23)
C30	0,625	24,24,25 (26,26,27)
C31	0,625	24,24,24 (27,27,27)
C32	0,625	23,23,24 (25,25,25)
C33	0,15	27,27,27 (29,29,30)
C34	0,625	25,25,25 (26,27,28)
C35	0,312	25,25,25 (26,27,27)
C36	0,312	27,28,28 (30,30,30)
C37	1,25	25,25,25 (27,27,28)
C38	0,15	26,26,27 (29,29,29)
C39	1,25	24,24,25 (27,27,28)
C40	0,625	25,25,26 (27,27,28)

E.coli	mcg/ml	mm
C41	0,625	26,26,26 (27,28,28)
C42	0,312	25,25,26 (28,28,29)
C43	0,312	25,25,26 (27,28,28)
C44	0,312	25,25,25 (28,28,28)
C45	0,15	25,25,25 (27,27,29)
C46	0,312	26,26,27 (28,28,29)
C47	0,312	25,25,27 (28,28,29)
C48	0,312	28,28,28 (29,29,31)
C49	0,15	26,26,26 (28,29,29)
C50	0,15	25,25,25 (27,27,28)

4. VERDÜNNUNGSREIHE VON NITROFURANTOIN

Verdünnung mit Aqua destilata sterilisata

RVT	1. Reihe	2. Reihe
1	80 mcg	60 mcg
2	40 mcg	30 mcg
3	20 mcg	15 mcg
4	10 mcg	7,5 mcg
5	5 mcg	3,75 mcg
6	2,5 mcg	1,87 mcg
7	1,25 mcg	0,93 mcg
8	0,62 mcg	0,46 mcg
9	0,31 mcg	0,23 mcg
10	0,15 mcg	0,11 mcg

5. TABELLARISCHE ANORDNUNG DER VERSUCHSERGEBNISSE MIT NITROFURANTOIN

MIT DIFCO-MEDIUM

Blättchenbeschickung: 100 mcg Zu Tab. 3

E.coli	mcg/ml	mm	mcg/ml	mm
C1	10/7,5	23,25,26	5/7,5	24,24,25
C2	5/7,5	25,25,27	5/7,5	27,27,28
C3	10/15	23,23,25	10/7,5	23,23,23
C4	20/15	21,22,22	20/15	22,22,23
C5	5/3,75	30,30,31	5/3,75	30,30,31
C6	10/15	23,23,24	10/15	22,23,22
C7	10/7,5	27,27,28	5/7,5	26,27,27
C8	5/3,75	31,31,32	5/3,75	30,30,31
C9	5/7,5	27,27,27	5/7,5	25,26,26
C10	10/15	26,27,27	10/7,5	26,26,28
C11	10/15	25,25,26	10/7,5	24,25,25
C12	5/7,5	26,26,27	5/7,5	25,25,26
C13	5/3,75	30,33,33	5/3,75	31,31,32
C14	5/3,75	32,32,33	5/3,75	32,32,34
C15	5/7,5	26,27,27	10/7,5	26,26,27
C16	5/7,5	25,26,26	5/7,5	25,26,26
C17	10/7,5	25,25,25	10/7,5	23,24,24
C18	5/7,5	25,25,26	5/7,5	25,25,25
C19	10/7,5	24,24,24	10/15	22,23,23
C20	10/15	24,24,25	10/15	23,23,24
C21	10/7,5	24,24,24	5/7,5	24,25,25
C22	10/7,5	23,24,24	5/7,5	25,25,25

E.coli	mcg/ml	mm	mcg/ml	mm
C23	80/60	0, 0, 0	80/60	0, 0, 0
C24	10/7,5	25,25,26	10/15	25,26,26
C25	10/7,5	24,24,25	10/7,5	24,25,25
C26	10/7,5	24,24,24	10/7,5	25,25,25
C27	10/7,5	25,25,25	10/7,5	24,25,25
C28	10/7,5	24,25,25	10/7,5	24,24,25
C29	40/30	18,18,20	40/30	17,18,18
C30	10/7,5	23,24,24	10/7,5	23,25,25
C31	20/15	21,21,22	20/15	21,21,22
C32	5/7,5	22,22,23	10/7,5	23,23,23
C33	10/15	24,25,25	10/7,5	23,24,24
C34	10/7,5	23,24,24	10/15	23,23,23
C35	5/7,5	23,25,25	5/7,5	23,24,24
C36	5/7,5	23,23,23	5/7,5	23,23,24
C37	5/7,5	28,28,29	5/7,5	28,28,29
C38	5/7,5	24,24,25	10/7,5	24,24,26
C39	20/30	20,20,21	20/30	20,20,21
C40	40/30	16,17,17	40/30	16,17,17
C41	5/7,5	25,25,26	10/7,5	25,25,26
C42	5/7,5	24,25,25	10/7,5	25,26,26
C43	40/60	17,18,18	40/60	17,17,18
C44	5/7,5	28,29,29	5/7,5	28,28,29
C45	5/7,5	23,24,24	10/7,5	24,24,25
C46	5/7,5	23,24,24	10/7,5	24,25,25
C47	5/7,5	28,28,28	5/7,5	28,28,29

E.coli	mcg/ml	mm	mcg/ml	mm
C48	5/7,5	23,24,24	10/7,5	24,25,25
C49	5/7,5	29,29,30	5/7,5	29,29,29
C50	20/30	18,19,19	20/30	17,19,19

VIII. LITERATURVERZEICHNIS

- (1) Klein, P.: Bakteriologische Grundlagen der chemotherapeutischen Laboratoriumspraxis, Springer, Berlin 1957
- (2) Wallhäußer, K. H.: Die praktische Bedeutung des Antibiotika-Sensibilitätestestes. Georg Thieme, Stuttgart
- (3) Ericsson, H. M. and J. C. Sherris: Antibiotic Sensitivity Testing. Report of an International Collaborative Study. Munksgaard Copenhagen.
- (4) Bourgeois, L. D. and L. J. Hart: The effect of agar depth on disc antibiotic sensitivity testing. Antimicrobial Agents and Chemotherapie 283 (1965)
- (5) Dunsmoor, C. L. and J. C. Sherris: Effect of agar depth on zone size. Bacteriological proceedings (1967)
- (6) Höfler, D.: Klinik und Pharmakologie des Gentamycin. Berliner Ärzteskammer 6 (1969) Heft 1
- (7) Weinstein, M. J.: Minimale Hemmkonzentrationen von Gentamycin im Vergleich zu Neomycin, Kanamycin und Colistin. 1. Intern. Symp. on Gentamycin, Paris (1967) 14.
- (8) Kobyletzki, v. D., H. Wahlig, F. Gebhardt: Zur Pharmakokinetik von Gentamycin im Serum und Harn. Med. Klinik 64 (1969) 1497-1502
- (9) Gingell, J. C. and D. M. Waterworth: Dose of Gentamycin in Patients with Normal Renal Function and Renal Impairment. Brit. med. J. 2 (1968) 19
- (10) Ritzlerfeld, W., V. Prat, L. Konickova, H. Losse: die antibioti-

- sche Wirkung von Gentamycin bei der experimentellen akuten Escherichia-coli-Pyelonephritis. Int. J. clin. Pharm. 3 (1968) 254.
- (11) Hepding, L. und H. Wahlig: Experimentelle Untersuchungen über ein neues Antibiotikum, Gentamycin. Arzneim.-Forsch. 16 (1966) 1-11.
- (12) Klein, J.O., T.C. Fickhoff, M. Finland: Amer. J. Med. Sci. 248 (1964) 528-543.
- (13) Barber, M. und P.M. Waterworth: Brit. Med. J. (1966) 203-205
- (14) Pines, A.: Gentamycin in chronic Pseudomonas and Klebsiella infections of the bronchi. First Int. Symp. on Gentamycin, Paris (1967) 138-144.
- (15) Naumann, P. und W. Auwärter: Pharmakologische und Therapeutische Eigenschaften von Gentamycin. Arzneim.-Forsch. 18 (1968) 1119-1123.
- (16) Auwärter, W. und P. Naumann: Untersuchungen in vitro zur antibakteriellen Aktivität von Gentamycin. Arzneim.-Forsch. 18 (1968) 1117-1119.
- (17) Ericsson, H.: Standardization of Methods for Conducting Microbic Sensitivity Tests. Karvlinska Sjukhuset, Stockholm/Sweden, (1964).
- (18) Walter, A.M., L. Heilmeyer: Antibiotika-Fibel. Thieme, Stuttgart 3. Aufl. 1969.
- (19) Bartmann, K.: Antimikrobielle Chemotherapie. Springer, Hei-

delberg 1974

- (20) Reckendorf, H.K., R. Castringius, H. Spingler: Die pharmakodynamischen Grundlagen der oralen und parenteralen Furadantintherapie in der Klinik. Med. Welt 15 (1963) 816-824.
- (21) Carroll, G., G. Brennan: J. Urol. 71 (1954) 650.
- (22) Hubmann, R., G. Bremer: Die Ausscheidung von Furadantin bei manifester Niereninsuffizienz. Med. Welt (1965) 1039.
- (23) Mintzer, S., E. R. Kadison, W. H. Shaes, O. Felsenfeld: Antibiot. et Chemother. Basel 3 (1953) 151.
- (24) Norfleet, Ch. M., P. R. Beamer, H. M. Carpenter: J. Urol. 70 (1953) 113.
- (25) Schenk, P.: Schweiz. Apoth. Z. 93 (1954) 977.
- (26) Hein, H.: Med. Welt 36 (1957) 2115
- (27) Miura, K., H. K. Reckendorf: Progr. med. Chemistry 5 (1967) 320.
- (28) Naumann, P.: Die Furadantin-Therapie der Harnwegsinfektionen aus bakteriologischer Sicht. Med. Welt (1958) 164.
- (29) Vömel, W. und H. Spingler: Experimentelle Untersuchungen mit neuen Furadantin-Formen. J. Urolog. 2 (1963) 1.
- (30) Dimmling, Th.: Derzeitige Resistenzsituation nierenpathogener Keime gegen einige gebräuchliche Harnweg-Chemotherapeutika. Med. Welt 22 (1971) 735.
- (31) Kähler, H. J.: Nitrofurantoin, Möglichkeiten und Grenzen seiner therapeutischen Anwendung. Med. Klinik 61 (1966) 505-509.

- (32) Nach Angaben der Eaton Laboratories: Introduction to the Nitrofurans. Amer. J. Med. 24 (1958)
- (33) Milne, M.D., B.H. Scribner, M.A. Crawford: Amer. J. Med. 24 (1958) 709.
- (34) Schirrmeister, J.: in : Pyelonephritis. Hrsg: H. Losse, M. Kienitz, Thieme, Stuttgart, Auflage 1967.
- (35) Schirrmeister, J., F. Stefani, H. Willmann, W. Hallauer: Der intrarenale Nitrofurantoin-Transport am Menschen. Klin. Wschr. 44 (1966) 402.
- (36) Chisholm, G.D., P.M. Waterworth, J.S. Calnan, L.P. Garrod: Concentration of antibacterial agents in interstitial tissue fluid. Brit. med. J. 1 (1973) 569-573.

Herrn Oberarzt Prof. Dr. W. Lang gilt für
die freundliche Überlassung des Themas und
für seine wertvollen Anregungen mein beson-
derer Dank.

LEBENS LAUF

Ich, Barbara Wiegandt, wurde am 4.9.1946 in Leonberg/Württ. geboren. Mein Vater war der Arzt Dr. Eberhardt Wiegandt, meine Mutter ist die Zahnärztin Dr. Margot Bachhuber.

Nach dem Besuch der Volksschule trat ich 1957 in das Sophie-Scholl-Gymnasium ein. Nach einem Schulwechsel im Jahre 1964 in das Gymnasium der Armen Schulschwestern am Anger legte ich dort 1967 die Reifeprüfung ab.

Im Wintersemester 1967 immatrikulierte ich mich an der Universität München, wo ich nach 2 Semester Studium an der tierärztlichen Fakultät zum Medizinstudium überwechselte. Dieses beendete ich mit dem Ablegen der ärztlichen Prüfung am 21. Juni 1974.

